昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, October 2005, 48(5): 792 – 798 ISSN 0454-6296

T4 病毒研究进展

易福明，张珈敏，刘传凤，胡远扬*

（武汉大学生命科学学院，昆虫病毒研究室，武汉 430072）

摘要：T4 病毒科由一类单股正链 RNA 病毒组成，分为松天蛾 β 样病毒属和松天蛾 ω 样病毒属。这 2 个属的病毒具有不同的基因组结构，β 样病毒含单组分基因组，其结构蛋白由一亚基因组 RNA 表达；而 ω 样病毒含双组分基因组，2 个 RNA 分子分别编码复制酶蛋白和结构蛋白。在 T4 病毒基因组 RNA 3′端有类似 tRNA 的二级结构。ω 样病毒壳蛋白的氨基酸序列一致性高达 66% ~ 86%，而 β 样病毒壳蛋白的氨基酸同源性则要低得多。在昆虫细胞中表达壳蛋白基因时都能形成病毒类似粒子。该文还介绍了 T4 病毒复制机理以及 T4 病毒与其他病毒的进化关系。

关键词：昆虫；T4 病毒；基因组结构；tRNA 类似结构；系统发育

中图分类号：Q966 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2005)05-0792-07

Advances in tetravirus research

YI Fu-Ming, ZHANG Jia-Min, LIU Chuan-Feng, HU Yuan-Yang* (Laboratory of Insect Virology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: The family Tetraviridae is comprised of (+) ssRNA viruses and divided into the *Nudaurelia* β-like viruses and *Nudaurelia* ω-like viruses. The viruses of these two genera have different genomic organization. The β-like viruses have monopartite genomes and use a subgenomic RNA to express the structural protein, while the β-like viruses have bipartite genomes composed of two unique RNA molecules, which encode the replicases and the structural proteins, respectively. There is a tRNA-like structure on the 3′-termini of the tetravirus genomic RNAs. The coat proteins of the ω-like viruses show 66% – 86% amino acid sequence identities, while the overall homologies between the coat proteins of the β-like viruses are much lower. When the coat protein ORFs of tetraviruses are expressed in insect cells, they are all able to form virus-like particles. The paper also reviewed advances on replication mechanism of tetrviruses and the evolutionary relationship among tetraviruses and others.

Key words: Insect; tetravirus; genome structure; tRNA-like structure; phylogeny

T4 病毒科（Tetraviridae）病毒是一组病毒粒子直径为 35 ~ 41 nm，无囊膜，在氯化铯中的浮力密度小于 1.30 g/cm^3 的正链 RNA 病毒，其宿主仅限于鳞翅目昆虫。基因组 RNA 5′端有帽子结构，3′端没有 Poly(A)尾；衣壳由一种多肽的 240 拷贝构成，排成 T = 4 的正二十面体对称结构。迄今发现，只有 T4 病毒科的病毒粒子正二十面体三角剖分数 T = 4，所以独立成 T4 病毒科（Hanzlik and Gordon，1997；吕鸿声，1998）。T4 病毒很久以前就开始引起人们的注意，但该病毒的研究进展一直比较缓慢。近年来，随着第 1 种 T4 病毒全基因组序列测序工作的完成以及晶体结构的确定，T4 病毒的研究取得了很大的进展。然而，在国内除了本实验室于 2001 年开始对 T4 病毒进行研究以外（胡远扬等，2002），尚未见其他相关研究的报道。本文拟对 T4 病毒研究进展作一综述。

1 T4 病毒科分类现状

T4 病毒科原称松天蛾 β 病毒组（Mathews，1982），1991 年第 5 届国际病毒学分类委员会根据其独特的 T = 4 的二十面体结构将其重新命名为 T4 病毒科（Francki and Fauquet，1991），当时仅设一个属，即松天蛾 β 样病毒属（*Nudaurelia* β-like virus genus），病毒基因组为单分子单链 RNA，大小约 5.5 kb，代表种是松天蛾 β 病毒（*Nudaurelia* β virus，NβV）。第

基金项目：国家自然科学基金项目(30170037)

作者简介：易福明，男，1970 年生，湖北监利人，博士研究生，从事昆虫病毒分子生物学研究，E-mail：whuyfm@yahoo.com

* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：yyhu@whu.edu.cn

收稿日期 Received：2004-12-08；接受日期 Accepted：2005-04-12

六届国际病毒学分类委员会又增设松天蛾 ω 样病毒属（*Nudaurelia* ω-like virus genus），病毒基因组为双分子单链 RNA，其中 RNA1 大小约 5.5 kb，RNA2 大小约为 2.5 kb，代表种是松天蛾 ω 病毒（*Nudaurelia* ω virus，NωV）（Murphy *et al.*，1995）。T4 病毒科目前包含 12 种已经确定的病毒和 10 种尚未分类的可能的成员（表 1）。

表 1　T4 病毒科成员

Table 1　Members of the family Tetraviridae

病毒名称 Virus name	缩写 Acronym	宿主范围 Family of host	产地 Geographical location	参考文献 References
松天蛾 ω 样病毒属 Genus：*Nudaurelia* ω-like viruses				
松天蛾 ω 病毒 *Nudaurelia capensis* ω virus	NωV	天蚕蛾科 Saturniidae	南非 South Africa	Hendry *et al.*，1985
松毛虫 T4 病毒 *Dendrolimus punctatus* tetravirus	DpTV	枯叶蛾科 Lasiocampidae	中国 China	Yi *et al.*，2005
棉铃虫矮缩病毒 *Helicoverpa armigera* stunt virus	HaSV	夜蛾科 Noctuidae	澳大利亚 Australia	Hanzlik *et al.*，1993
松天蛾 β 样病毒属 Genus：*Nudaurelia* β-like viruses				
松天蛾 β 病毒 *Nudaurelia capensis* β virus	NβV	天蚕蛾科 Saturniidae	南非 South Africa	Juckes，1970，1979
桉蚕病毒 *Antheraea eucalypti* virus	AeV	天蚕蛾科 Saturniidae	澳大利亚 Australia	Grace and Mercer，1965
油棕刺蛾病毒 *Darna trima* virus	DtV	刺蛾科 Limacodidae	马来西亚 Malaysia	Reinganum *et al.*，1978
茸毒蛾病毒 *Dasychira pudibunda* virus	DpV	毒蛾科 Lymantriidae	英国 UK	Greenwood and Moore，1981a，1981b
蓖麻蚕病毒 *Philosamia cynthia* × *ricini* virus	PxV	天蚕蛾科 Saturniidae	英国 UK	Reinganum *et al.*，1978
大豆尺蠖病毒 *Pseudoplusia includens* virus	PiV	夜蛾科 Noctuidae	美国 United States	Chao and Young，1983
普罗维登斯病毒 Providence virus	PrV	未确定 Not determined	美国 United States	Pringle *et al.*，2003
明脉扁刺蛾病毒 *Thosea asigna* virus	TaV	刺蛾科 Limacodidae	马来西亚 Malaysia	Reinganum *et al.*，1978
粉纹夜蛾病毒 *Trichoplusia ni* virus	TnV	夜蛾科 Noctuidae	美国 United States	Morris *et al.*，1979
可能成员 Unassigned possible members				
鬼脸天蛾病毒 *Acherontia atropas* virus	AaV	天蛾科 Sphingidae	卡来罗群岛 Canary Islands	Greenwood and Moore，1982
一种蝶类昆虫病毒 *Agraulis vanillae* virus	AvV	蛱蝶科 Nymphalidae	阿根廷 Argentina	Greenwood and Moore，1982
一种灯蛾昆虫病毒 *Callimorpha quadripuntata* virus	CqV	灯蛾科 Arctiidae	英国 UK	Greenwood and Moore，1982
膨角夜蛾病毒 *Eucocytis meeki* virus	EmV	夜蛾科 Noctuidae	葡属新几内亚 Papua New Guinea	Greenwood and Moore，1982
紫蝶病毒 *Euploea corea* virus	EcV	斑蝶科 Danaidae	澳大利亚/德国 Australia/Germany	Greenwood and Moore，1982
灯蛾病毒 *Hypocritae jacobeae* virus	HjV	灯蛾科 Arctiidae	英国 UK	Greenwood and Moore，1982
毒蛾病毒 *Lymantria ninayi* virus	LnV	毒蛾科 Lymantriidae	葡属新几内亚 Papua New Guinea	Greenwood and Moore，1982
松天蛾 ε 病毒 *Nudaurelia* ε virus	NεV	天蚕蛾科 Saturniidae	南非 South Africa	Juckes，1970，1979
天蚕蛾病毒 *Saturnia pavonia* virus	SpV	天蚕蛾科 Saturniidae	英国 UK	Greenwood and Moore，1982
椰黄褐刺蛾病毒 *Setora nitens* virus	SnV	刺蛾科 Limacodidae	巴基斯坦 Pakistan	Greenwood and Moore，1982

2 T4 病毒基因组结构

2.1 松天蛾 β 样病毒的基因组结构

据报道,完全测序的松天蛾 β 样病毒只有 1 种,即 NβV(Gordon *et al*., 1999)。另外,明脉扁刺蛾病毒(*Thosea asigna* virus, TaV)和普罗维登斯病毒(Providence virus, PrV)基因组的完整或部分编码序列已经确定(Pringle *et al*., 1999, 2003; Gorbalenya *et al*., 2002)。这些病毒基因组为二顺反子,两个开放阅读框(open reading frame, ORF)有部分重叠,5′端编码复制酶蛋白,而结构蛋白基因位于基因组 3′端,通过一个长约 2.5 kb 的亚基因组 RNA 进行表达(图 1)。NβV 的全基因组共 6 625 bp,5′端编码复制酶的开放阅读框起始密码子位于第 93 ~ 第 95 位核苷酸,编码一个含有 1 925 个氨基酸的蛋白质,分子量约为 216 kD。该复制酶蛋白的功能区排列顺序从 5′ 端到 3′端分别是甲基转移酶、解旋酶和 RNA 聚合酶(RdRp)。位于 3′ 端的结构蛋白基因与复制酶基因有 1 827 个核苷酸重叠,编码一个含有 612 个氨基酸残基的蛋白质,分子量约为 66 kD。该蛋白质为壳蛋白前体,经过 Asn536/Gly537 位点的切割产生分子量分别为 58 kD 和 8.0 kD 的 2 个壳蛋白亚单元(subunit)。TaV 和 PrV 的基因组结构与 NβV 相似,但其壳蛋白表达战略与 NβV 不同。基因组 3′ 端开放阅读框编码的前体蛋白经过 2 次切割,除了产生大小两种壳蛋白亚单元外,还产生一种功能未知的非结构蛋白。蛋白质前体的第 1 次切割非常快,在切割位点有一个起顺式作用的加工信号:GxExNPGP,因此该位点的切割可能是由蛋白质自我水解的 2A/2B 切割(Donnelly *et al*., 2001; Pringle *et al*., 2003);第 2 次切割与 NβV 壳蛋白前体的切割机制类似,都是组装后切割(post-assembly cleavage),只是 PrV 的切割位点发生了变化,由 Asn/Gly 变为 Asn/Phe(Pringle *et al*., 1999, 2001, 2003)。另外,TaV 复制蛋白的 RNA 聚合酶位于复制蛋白的中间,且组成该酶掌形亚域(palm subdomain)的 A、B 和 C 基序(motif)发生了内部重排,由经典的 A-B-C 变成了 C-A-B(Gorbalenya *et al*., 2002)。

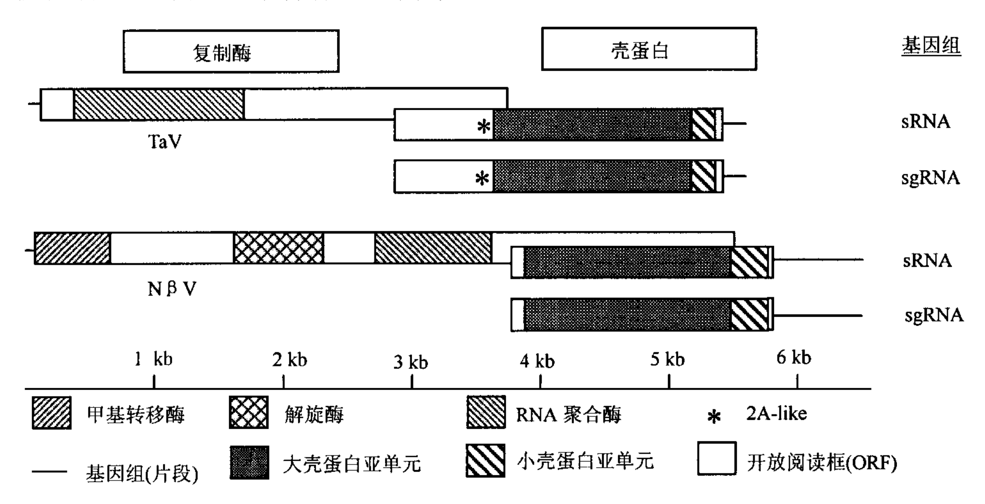


图 1 松天蛾 β 样病毒基因组结构(仿 Gorbalenya *et al*., 2002)

Fig. 1 Genome structure of *Nudaurelia* β-like viruses (Adapted from Gorbalenya *et al*., 2002)

2.2 松天蛾 ω 样病毒的基因组结构

目前已经确定的松天蛾 ω 样病毒只有 3 种(表 1),其中棉铃虫矮缩病毒(*Helicoverpa armigera* stunt virus, HaSV)和松毛虫 T4 病毒(*Dendrolimus punctatus* tetravirus, DpTV)的基因组全序列以及 NωV 的 RNA2 序列已经确定(Agrawal and Johnson, 1992; Gordon *et al*., 1995; Hanzlik *et al*., 1995; Yi *et al*., 2005)。这 3 种病毒都含双分子 RNA 基因组,RNA1 只有一个大的开放阅读框,编码分子量约为 180 kD 的复制酶蛋白,复制蛋白排列顺序从 5′端到 3′端分别是甲基转移酶、解旋酶和 RNA 聚合酶。RNA2 有 2 个部分重叠的较大的开放阅读框,分别编码壳蛋白前体和一种分子量约为 17 kD 的非结构蛋白(P17)(图 2)。P17 蛋白中 Pro (P)、Glu (E)、Ser (S) 和 Thr (T) 4 种氨基酸的含量高达 39% ~ 49%,是一种 PEST 蛋白,其功能目前尚不清楚。对 HaSV 在植物原生质体中的组装研究表明,P17 蛋白具有调节功能,在病毒 RNA 复制过程中,协调 RNA1 和 RNA2 对复制酶的竞争(Hanzlik and Gordon, 1997)。另外 P17 蛋白基因在大肠杆菌中进行表达时能够形成六角形的管状

结构，因此，Hanzlik 等（1995）推测该蛋白可能有与植物病毒编码的移动蛋白相似的功能。与松天蛾 β 样病毒壳蛋白前体一样，松天蛾 ω 样病毒的壳蛋白前体也要进行一次切割产生分子量分别为 60 kD 和 7.0 kD 的 2 种壳蛋白亚单元，并且这 3 种松天蛾 ω 样病毒的切割位点与 PrV 一样都是在 Asn/Phe 位点的切割。研究表明这种切割是 T4 病毒粒子成熟所必需的（Agrawal and Johnson，1995；Canady *et al*.，2000；Pringle *et al*.，2001；Taylor *et al*.，2002）。

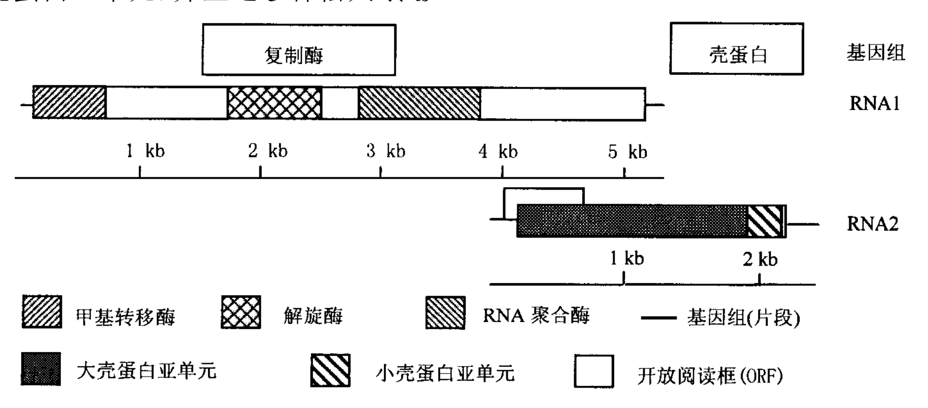


图 2　松天蛾 ω 样病毒基因组结构（仿 Gorbalenya *et al*.，2002）

Fig. 2　Genome structure of *Nudaurelia* ω-like viruses（Adapted from Gorbalenya *et al*.，2002）

有些脊椎动物正链 RNA 病毒的复制酶都含有类木瓜蛋白酶基序（motif）和富含脯胺酸铰链区（hinge domain），意味着这种 RNA 复制酶多聚蛋白能进行自我加工，形成分子量较小的功能蛋白（Koonin *et al*.，1992；Strauss and Strauss，1994）。所有已经测序的 T4 病毒表明该类病毒复制酶蛋白皆不含这 2 种区域，因此 T4 病毒的复制蛋白是否能进行自我加工而形成较小分子量的功能蛋白目前仍不清楚。

3　T4 病毒基因组复制

由于使用末端标记的基因组 RNA 作为探针，只能从 NβV 感染的昆虫宿主 RNA 中观察到一种与病毒基因组 RNA 相对应的双链 RNA 复制中间体（replicative intermediate），而没有发现与亚基因组 RNA 相对应的中间体，Du Plessis 等（1991）认为 NβV 的基因组 RNA 及亚基因组 RNA 全部以完整的负链 RNA 作为模板进行复制。但是，Pringle 等（2003）却在 PrV 感染的细胞中发现了与其亚基因组相对应的负链 RNA，所以认为 PrV 与羊舍病毒（flock house virus，FHV）一样，其亚基因组可单独进行复制，并且他们还发现该病毒亚基因组 RNA 的合成略滞后于病毒基因组 RNA 的合成。因此松天蛾 β 样病毒的基因组复制形式可能比较复杂。

松天蛾 ω 样病毒基因组 RNA1 和 RNA2 的序列一致性非常低，因此这 2 种 RNA 可能分别从单独的负链 RNA 模板复制。这种复制模型被 NωV 感染的昆虫宿主中所发现的分别与其基因组 RNA1 和 RNA2 相对应的双链 RNA（dsRNA）复制中间体所证实（Hanzlik and Gordon，1997）。

4　T4 病毒基因组 RNA 的二级结构

所有完全测序的 T4 病毒基因组 RNA 3′端的序列都能折叠成与 tRNA 类似的二级结构（tRNA-like secondary structure）（Agrawal and Johnson，1992；Gordon *et al*.，1995，1999；Hanzlik *et al*.，1995；Yi *et al*.，2005）。T4 病毒是目前在动物病毒中发现的唯一具有这种 tRNA 类似结构的病毒。这种 tRNA 类似结构与真核 $tRNA^{val}$ 具有较大的同源性，且都带有缬氨酸反密码子；该结构与已经发现的植物病毒基因组 RNA 的 3′端 tRNA 类似二级结构也非常相似，但在氨基酸臂上不含有植物病毒特有的假节（pseudoknot）。

植物病毒基因组 RNA 3′端的 tRNA 类似结构与 RNA 的复制有关（Dreher and Hall，1988；Ishikawa *et al*.，1991；Duggal *et al*.，1992），并且具有端粒的功能（telomeric function），在 RNA 的复制过程中保持末端序列的信息（Rao *et al*.，1989）。Gordon 等（1999）猜测 T4 病毒基因组 RNA 3′端的 tRNA 类似结构也具有这样的功能，并且还能保护 RNA 免受核酸外切酶的降解。作者在利用 3′RACE 方法测定 DpTV 基因组 RNA 末端序列的过程中共挑取 20 个克隆测序，没有发现一个克隆的核酸插入序列终止于 tRNA

类似结构内部的核苷酸残基，该结果表明病毒基因组 RNA 3′端的核苷酸序列发生断裂的可能性很小，多以完整的 tRNA 类似结构形式存在，间接证明了 T4 病毒基因组 RNA 3′端的 tRNA 类似结构具有保护 RNA 免受核酸外切酶降解的功能。

另外，HaSV 基因组 RNA 5′端帽子结构的下游核苷酸序列能形成独特的发卡结构。Gordon 等（1995）推测这种结构也与 RNA 的复制有关。但是，对于其他已经测序的 T4 病毒未见相关结构的报道。

5 T4 病毒壳蛋白序列分析及表达

5.1 壳蛋白序列分析

T4 病毒壳蛋白（以下均指壳蛋白前体）氨基酸序列同源性变化很大（图 3）。相对而言，松天蛾 ω 样病毒壳蛋白之间的同源性较高，如 DpTV 和 NωV 之间的序列一致性高达 86%；而松天蛾 β 样病毒壳蛋白之间的同源性较低，序列一致性为 27% ~ 35%，相似性也仅为 35% ~ 43%。值得注意的是，虽然基因组结构及病毒粒子表面特征都表明 PrV 属于松天蛾 β 样病毒属，但其壳蛋白氨基酸序列与松天蛾 ω 样病毒之间的同源性更高，与 HaSV、NωV 和 DpTV 之间的序列一致性分别为 38%、37% 和 30%，而与 NβV 和 TaV 之间的序列一致性分别为 27% 和 28%，这种差异对阐明 T4 病毒的进化具有重要的意义（Pringle *et al*., 2003; Yi *et al*., 2005）。

NωV 壳蛋白晶体结构的确定表明其氨基酸序列可以分为 4 个区域：N 末端区域（N-terminal domain）、春卷结构域（jelly-roll domain）、lg 类似结构域（lg-like domain）和 C 末端区域（C-terminal domain）（此区域与切割后形成的小蛋白质亚单元相对应）。春卷结构域位于氨基酸序列的中间，被 lg 类似结构域分隔成 2 部分（Munshi *et al*., 1996; Helgstrand *et al*., 2004）。氨基酸序列分析及结构预测表明其他 T4 病毒的壳蛋白氨基酸序列也可以分成这样的 4 个区域（Gordon *et al*., 1999; Pringle *et al*., 1999, 2001; Yi *et al*., 2005）。春卷结构含 8 个 β-折叠片，形成病毒相邻的蛋白壳；lg 类似结构域位于蛋白壳的外表面，可能与病毒附着和进入宿主细胞相关，决定病毒感染宿主细胞的特异性；2 个末端区域位于蛋白壳的内表面，其碱性氨基酸含量较高，带有大量的正电荷，可能与病毒基因组 RNA 的包装和释放有关。

相似性 Similarity (%)

一致性 Identity (%)

	PrV	TaV	HaSV	NβV	NωV	DpTV
PrV		35	47	35	46	50
TaV	28		33	43	35	37
HaSV	38	27		36	72	76
NβV	27	35	29		35	36
NωV	37	27	66	29		92
DpTV	30	23	66	23	86	

图 3 T4 病毒壳蛋白前体氨基酸序列同源性分析（%）

Fig. 3 Homology analysis of tetravirus capsid protein precursor amino acid sequences（%）

DpTV: *Dendrolimus punctatus* tetravirus; HaSV: *Helicoverpa armigera* stunt virus; NβV: *Nudaurelia capensis* β virus; NωV: *Nudaurelia capensis* ω virus; PrV: Providence virus; TaV: *Thosea asigna* virus.

5.2 壳蛋白的体外表达

在发现 T4 病毒能感染的细胞培养系之前，人们对该类病毒粒子的组装和复制的研究多采用体外表达的方法。使用杆状病毒表达载体在昆虫细胞中表达 T4 病毒壳蛋白基因时能形成病毒类似粒子（virus-like particles，VLPs）（Agrawal and Johnson, 1995; Pringle *et al*., 2001），而在细菌中表达该基因时，壳蛋白不能产生自我切割，也不能形成病毒类似粒子（Hanzlik *et al*., 1995）。所形成的病毒类似粒子在很多重要性质方面都与其病毒粒子相同或相似，如都能以相似的方式纯化，具有相同的粒子形态，都能进行组装后的自我切割等。Agrawal 和 Johnson（1995）在 Sf9 和 Sf21 细胞表达 NωV 的壳蛋白基因时还发现病毒类似粒子能包装进表达该蛋白的 mRNA，而很少或不包装进细胞的 RNA，说明病毒粒子在包装 RNA 时具有选择性和特异性，同时也表明病毒粒子对 RNA 的特异包装信号存在于壳蛋白的编码序列中。Pringle 等（2001）还在其他条件相同的情况下于 Sf21 细胞中分开表达了 TaV 的大小壳蛋白亚单元，但没有病毒类似粒子的形成，该结果表明壳蛋白的切割可能是病毒粒子形成所必须的。Gordon 等（2001）在植物细胞中表达 HaSV 壳蛋白基因的同时，共转染进 HaSV 完整的基因组 RNA（RNA1 和 RNA2）或同时使用其他载体进行转录，释放完整的 HaSV 基因组 RNA，获得了具有感染性的病毒粒子。该研究还表明病毒粒子的组装不依赖其 RNA 的复制。

6 T4 病毒的进化

6.1 T4 病毒之间的进化关系

T4 病毒科 2 个属的病毒因具有很多共同的特征而归属于同一病毒科，被视为来源于同一祖先。但是这 2 个属的病毒基因组结构明显不同（图 1 ~ 2），因此，该共同祖先可能具有单组分的基因组，也可能具有二组分的基因组结构。Hanzlik 和 Gordon（1997）认为，松天蛾 ω 样病毒由松天蛾 β 样病毒的祖先通过其单组分基因组的分段进化而来。根据他们的推测，编码松天蛾 β 样病毒壳蛋白的亚基因组 RNA 进化成为松天蛾 ω 样病毒所具有的基因组成分，而原来基因组 RNA 上的壳蛋白基因丧失编码功能或者编码该蛋白的核苷酸序列丢失而被其他的核苷酸序列取代。松天蛾 ω 样病毒编码 P17 蛋白的基因是为了满足新的生物学需要（可能是为了协调松天蛾 ω 样病毒 RNA1 和 RNA2 的复制），在巨大的选择压力下重新产生的。我们进一步推测，松天蛾 ω 样病毒可能是由 PrV 或与 PrV 亲缘关系较近的其他松天蛾 β 样病毒的祖先进化而来。这是因为：（1）相对松天蛾 ω 样病毒来说，松天蛾 β 样病毒壳蛋白之间的同源性要低很多；（2）PrV 与 ω 样病毒壳蛋白之间的同源性比与 β 样病毒壳蛋白之间的同源性高；（3）PrV 与其他 β 样病毒壳蛋白的切割位点不同，而与 ω 样病毒壳蛋白的切割位点一致；（4）与 NβV 不同，编码 PrV 壳蛋白的基因还编码一分子量约为 13 kD 的非结构蛋白，该编码区可能与松天蛾 ω 样病毒编码 P17 蛋白的基因的产生相关。

6.2 T4 病毒与其他病毒之间的进化关系

对于所有 RNA 病毒，主要根据壳蛋白和复制酶的同源性来确定他们之间的进化关系。另外，病毒所具有的其他特征对确定不同病毒之间的进化关系也有重要的价值。蛋白质结构分析表明，T4 病毒与野田村病毒的衣壳蛋白具有非常相似的结构，且 T4 病毒的壳蛋白可能是野田村病毒的壳蛋白通过复杂的变化而形成的（Olson *et al*.，1990；Johnson *et al*.，1994；Johnson，1996；Munshi *et al*.，1996；Helgstrand *et al*.，2004）。对 NωV 和野田村病毒壳蛋白序列的同源性分析，为这种推测提供了有力的证据（Agrawal and Johnson，1992）。Chelvanayagam 等（1992）在蛋白质的系统发育分析中使用了大量来自病毒和细胞的结构相似但序列高度分化的蛋白质进行比对，Hanzlik 和 Gordon（1997）在此基础上扩大了分析范围，包含了 NωV、HaSV 和 NβV 的壳蛋白序列。分析显示野田村病毒和 T4 病毒壳蛋白形成相关的系统发育束，表明这两类病毒可能来源于同一祖先。

T4 病毒具有 α 类似 RNA 病毒超家族（α-like RNA virus superfamily）的一些特征。这些特征包括：（1）复制酶蛋白含有甲基转移酶，解旋酶和 RNA 聚合酶基序；（2）基因组 RNA 5′端有帽子结构；（3）有些基因通过亚基因组 RNA 进行表达。另外，所有在基因组 RNA 3′端有 tRNA 类似结构的病毒都属于 α 类似 RNA 病毒超家族。因此，Hanzlik 和 Gordon（1997）认为 T4 病毒也属于 α 类似 RNA 病毒超家族。分别对 T4 病毒复制酶蛋白的甲基转移酶、解旋酶及 RNA 聚合酶与 α 类似 RNA 病毒超家族病毒的相关区域进行比对分析，对所有这 3 个区域，T4 病毒均构成 α 类似 RNA 病毒超家族进化谱系中的一个进化分枝。而对野田村病毒复制酶分析表明这类病毒不属于任何一个病毒超家族，包括 α 类似 RNA 病毒超家族。

对 T4 病毒壳蛋白和复制酶蛋白以及基因组形态学的其他特征分别进行分析，产生两种完全不同的进化途径，因此 T4 病毒可能是一种嵌合病毒，其复制酶起源于 α 类似 RNA 病毒超家族，而壳蛋白则来源于野田村病毒或野田村病毒的祖先（Hanzlik and Gordon，1997）。

参 考 文 献（References）

Agrawal DK，Johnson JE，1992. Sequence and analysis of the capsid protein of *Nudaurelia capensis* ω virus，an insect virus with T = 4 icosahedral symmetry. *Virology*，190：806 – 814.

Agrawal DK，Johnson JE，1995. Assembly of the T = 4 *Nudaurelia capensis* ω virus capsid protein，post-translational cleavage，and specific encapsidation of its mRNA in a baculovirus expression system. *Virology*，207：89 – 97.

Canady MA，Tihova M，Hanzlik TN，Johnson JE，Yeager M，2000. Large conformational changes in the maturation of a simple RNA virus，*Nudaurelia capensis* ω virus（NωV）. *J. Mol. Biol.*，299：573 – 584.

Chao YC，Young SY，1983. An icosahedral RNA virus of the soybean looper（*Pseudoplusia includens*）. *J. Gen. Virol.*，64：1 835 – 1 838.

Chelvanayagam G，Heringa J，Argos P，1992. Anatomy and evolution of proteins displaying the viral capsid jelly-roll topology. *J. Mol. Biol.*，228：220 – 242.

Donnelly MLL，Hughes LE，Luke G，Mendoza H，Dam ET，Gani D，Ryan MD，2001. The ‘cleavage’ activities of foot-and-mouth disease virus 2A site-directed mutants and naturally occurring ‘2A-like’ sequences. *J. Gen. Virol.*，82：1 027 – 1 041.

Dreher TW，Hall TC，1988. Mutation analysis of the sequence and structural requirements in brome mosaic virus RNA for minus strand promoter activity. *J. Mol. Biol.*，201：31 – 40.

Du Plessis DH，Mokhosi G，Hendry DA，1991. Cell-free translation and identification of the replicative form of *Nudaurelia* β virus RNA. *J. Gen. Virol.*，72：267 – 273.

Duggal R, Rao ALN, Hall TC, 1992. Unique nucleotide differences in the conserved 3′ termini of brome mosaic virus RNAs are maintained through their optimization of genome replication. *Virology*, 187: 261 – 270.

Francki RIB, Fauquet C, 1991. Listing of virus families and groups. In: Francki RIB, Fauquet C, Knudson D, Brown F eds. Classification and Nomenclature of Viruses: Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. New York: Springer-Verlag. 80 – 85.

Gorbalenya AE, Pringle FM, Zeddam J, Luke BT, Cameron CE, Kalmakoff J, Hanzlik TN, Gordon KHJ, Ward VK, 2002. The palm subdomain-based active site is internally permuted in viral RNA-dependent RNA polymerases of an ancient lineage. *J. Mol. Biol.*, 324: 47 – 62.

Gordon KHJ, Johnson KN, Hanzlik TN, 1995. The larger genomic RNA of *Helicoverpa armigera* stunt tetravirus encodes the viral RNA polymerase and has a novel 3′-terminal tRNA-like structure. *Virology*, 208: 84 – 98.

Gordon KHJ, Williams MR, Baker JS, Gibson JM, Bawden AL, Millgate AG, Larkin PJ, Hanzlik TN, 2001. Replication-independent assembly of an insect virus (Tetraviridae) in plant cells. *Virology*, 288: 36 – 50.

Gordon KHJ, Williams MR, Hendry DA, Hanzlik TN, 1999. Sequence of the genomic RNA of *Nudaurelia* β virus (Tetraviridae) defines a novel virus genome organization. *Virology*, 258: 42 – 53.

Grace TDC, Mercer EH, 1965. A new virus of the saturniid *Antheraea eucalypti* (Scott). *J. Invertebr. Pathol.*, 7: 241 – 244.

Greenwood LK, Moore NF, 1981a. A single protein *Nudaurelia* β-like virus of the pale tussock moth *Dasychira pudibunda*. *J. Invertebr. Pathol.*, 38: 305 – 306.

Greenwood LK, Moore NF, 1981b. The *Nudaurelia* β group of small RNA viruses of insects. Serological comparison of four members. *Microbiologica*, 4: 271 – 280.

Greenwood LK, Moore NF, 1982. The *Nudaurelia* β group of small RNA-containing viruses of insects: Serological identification of several new isolates. *J. Invertebr. Pathol.*, 39: 407 – 409.

Hanzlik TN, Dorrian SJ, Gordon KHJ, Christian PD, 1993. A novel small RNA virus isolated from the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *J. Gen. Virol.*, 74: 1 105 – 1 110.

Hanzlik TN, Dorrian SJ, Johnson KN, Brooks EM, Gordon KHJ, 1995. Sequence of RNA2 of the *Helicoverpa armigera* stunt virus (Tetraviridae) and bacterial expression of its genes. *J. Gen. Virol.*, 76: 799 – 811.

Hanzlik TN, Gordon KHJ, 1997. The Tetraviridae. *Adv. Virus. Res.*, 48: 101 – 168.

Helgstrand C, Munshi S, Johnson JE, Liljas L, 2004. The refined structure of *Nudaurelia capensis* ω virus reveals control elements for a T = 4 capsid maturation. *Virology*, 318: 192 – 204.

Hendry DA, Hodgson V, Clark R, Newman JE, 1985. Small RNA viruses coinfecting the pine emperor moth *Nudaurelia cytherea capensis*. *J. Gen. Virol.*, 66: 627 – 632.

Hu YY, Ouyang GJ, Zhang JM, Li L, Wu KL, Yi FM, Yin YN, 2002. The isolation and identification of a new member of Tetraviridae family from China. *Virologica Sinica*, 17(1): 73 – 76. [胡远扬,欧阳国杰,张珈敏,李莉,邬开朗,易福明,尹宜农,2002. T4 病毒科一个新成员的分离鉴定. 中国病毒学,17(1): 73 – 76]

Ishikawa M, Kroner P, Ahlquist P, Meshi T, 1991. Biological activities of hybrid RNAs generated by 3′-end exchanges between tobacco mosaic and brome mosaic viruses. *J. Virol.*, 65: 3 451 – 3 459.

Johnson JE, 1996. Functional implications of protein-protein interactions in icosahedral viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93: 27 – 33.

Johnson JE, Munshi S, Liljas L, Agrawal D, Olson N, Reddy V, Fisher A, McKinney B, Schmidt T, Baker TS, 1994. Comparative studies of T = 3 and T = 4 icosahedral RNA insect viruses. *Arch. Virol. Suppl.*, 9: 497 – 512.

Juckes IRM, 1970. Viruses of the pine emperor moth. *Bull. S. Afr. Soc. Plant Pathol. Microbiol.*, 4: 18.

Juckes IRM, 1979. Comparison of some biophysical properties of the *Nudaurelia* β and ε viruses. *J. Gen. Virol.*, 42: 89 – 94.

Koonin EV, Gorbalenya AE, Purdy MA, Rozanov MN, Reyes GR, Bradley DW, 1992. Computer-assisted assignment of functional domains in the non-structural polyprotein of hepatitis E virus: Delineation of an additional group of positive strand RNA plant and animal viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 8 259 – 8 263.

Lu HS, 1998. Molecular Biology of Insect Virus. Beijing: Chinese Agricultural Scientech Press. 463 – 466. [吕鸿声,1998. 昆虫病毒分子生物学. 北京:中国农业科技出版社. 463 – 466]

Mathews RE, 1982. Classification and nomenclature of viruses, fourth report of the international committee on taxonomy of viruses. *Intervirology*, 17: 1 – 160.

Morris JT, Hess RT, Pinnock DE, 1979. Physicochemical and characterization of a small RNA virus associated with baculovirus infection in *Trichoplusia ni*. *Intervirology*, 11: 238 – 247.

Munshi S, Liljas L, Cavarelli J, Bomu W, Mckinney B, Reddy V, Johnson JE, 1996. The 2.8 Å structure of a T = 4 animal virus and its implication for membrane translocation of RNA. *J. Mol. Biol.*, 261: 1 – 10.

Murphy FA, Fauquet CM, Bishop DL, Ghabrial SA, Jarvis AW, Martelli GP, Mayo MA, Summers MD, 1995. Virus Taxonomy: Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. New York: Springer-Verlag.

Olson NH, Baker TS, Johnson JE, Hendry DA, 1990. The three-dimensional structure of frozen-hydrated *Nudaurelia capensis* β virus, a T = 4 insect virus. *J. Struct. Biol.*, 105: 111 – 122.

Pringle FM, Gordon KHJ, Hanzlik TN, Kalmakoff J, Scotti PD, Ward VK, 1999. A novel capsid expression strategy for *Thosea asigna* virus (Tetraviridae). *J. Gen. Virol.*, 80: 1 855 – 1 863.

Pringle FM, Johnson KN, Goodman CL, McIntosh AH, Ball LA, 2003. Providence virus: a new member of the Tetraviridae that infects cultured insect cells. *Virology*, 306: 359 – 370.

Pringle FM, Kalmakoff J, Ward VK, 2001. Analysis of the capsid processing strategy of *Thosea asigna* virus using baculovirus expression of virus-like particles. *J. Gen. Virol.*, 82: 259 – 266.

Rao ALN, Dreher TW, Marsh LE, Hall TC, 1989. Telomeric function of the tRNA-like structure of brome mosaic virus RNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86: 5 335 – 5 339.

Reinganum C, Roberstson JS, Tinsley TW, 1978. A new group of RNA viruses from insects. *J. Gen. Virol.*, 40: 195 – 202.

Strauss JH, Strauss EG, 1994. The alphaviruses: gene expression, replication and evolution. *Microbiol. Rev.*, 58: 491 – 562.

Taylor DJ, Krishna NK, Canady MA, Schneemann A, Johnson JE, 2002. Large-scale, pH-dependent, quaternary structure changes in an RNA virus capsid are reversible in the absence of subunit autoproteolysis. *J. Virol.*, 76: 9 972 – 9 980.

Yi F, Zhang J, Yu H, Liu C, Wang J, Hu Y, 2005. Isolation and identification of a new tetravirus from *Dendrolimus punctatus* larvae collected from Yunnan Province, China. *J. Gen. Virol.*, 86: 789 – 796.

(责任编辑: 黄玲巧)